

12 07 2004



REC'D 02 AUG 2004
WIPO PCT

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 103 28 869.4

Anmeldetag: 26. Juni 2003

Anmelder/Inhaber: Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung eV, 80636 München/DE

Bezeichnung: Probeaufnahmeeinrichtung und Verfahren zu deren Herstellung

IPC: G 01 N, B 01 L, A 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 18. Juni 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Hintermeier

16090 Hz

BESCHREIBUNG

Probenaufnahmeeinrichtung und Verfahren zu deren Herstellung

5

Die Erfindung betrifft Probenaufnahmeeinrichtungen mit den Merkmalen des Oberbegriffs von Anspruch 1. Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung und/oder zur Anwendung derartiger Probenaufnahmeeinrichtungen.

10

Die Kryokonservierung ist ein allgemein bekanntes Verfahren zur Haltbarmachung insbesondere biologisch (oder medizinisch) relevanter Materialien. Diese Materialien umfassen bspw.

Zellaggregate, Gewebe und Organe, Körperflüssigkeiten oder 15 auch einzelne Zellen oder Zellbestandteile, insbesondere im gelösten oder suspendierten Zustand. Die Kryokonservierung erfolgt nach bestimmten Prozeduren in Behältern oder auf Substraten, deren Gestalt an die Probe mit dem biologischen Material angepasst ist. Behälter zur Kryokonservierung sind 20 bspw. für Gewebe und Organe (siehe DE-OS 199 22 31, EP-A 0 853 238, DE-OS 197 25 768, DE-OS 199 05 163), für Blutkomponenten (siehe z. B. DE-OS 198 26 350) und für zell- oder tropfenförmige Kryoproben (siehe z. B. US-A-5 275 016, EP-B 0 475 409, DE-OS 199 21 236, EP-B 0 804 073) bekannt.

25

Generell besteht bei der Kryokonservierung biologischer Proben ein Interesse daran, Behälter zur Probenaufnahme schnell und ohne einen besonderen Aufwand zu beschicken. Des Weiteren sollen die Behälter technologisch einfach und billig als Massenprodukt herstellbar sein. Diese Anforderungen werden insbesondere durch schlauchförmige Probenkammern erfüllt, die 30 leicht befüllbar und im tiefgefrorenen Zustand zerlegbar, fraktionierbar oder anderweitig teilbar sind.

Beispielsweise ist aus DE 102 51 668 bekannt, mehrere schlauchförmige Probenkammern an einem Halterahmen zu befestigen. Dieser Aufbau besitzt den Nachteil, dass die Probenkammer bei praktisch sinnvollen Rahmengrößen eine sehr geringe Aufnahmekapazität besitzen. Nachteilig kann ferner sein, dass zur Beschickung der Probenkammern ggf. ein Hilfsgerät erforderlich ist. In DE 102 51 668 wird auch vorgeschlagen, die Probenkammern 10' in Form von Bündeln zu verwenden (siehe Figur 7). Ein Ende des Bündels ist an einer Halterung 20' befestigt, an der die Probenkammern beispielsweise hängend in einen Kryotank eingehängt werden. In die Halterung 20' ist ferner ein Datenspeicher zur Speicherung von Probendaten integriert. Weitere Datenspeicher können entlang der Länge des Bündels befestigt sein.

15

Die herkömmlichen schlauchförmigen Probenkammern haben den weiteren Nachteil, das für eine platzsparende und stabile Lagerung ein Aufwickeln, ein mäanderförmiges Auslegen auf einem Substrat o. dgl. erforderlich ist, was bisher einen hohen Montageaufwand bedeutet und die Möglichkeiten zur Automatisierung beschränkt.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, verbesserte Probenaufnahmeeinrichtungen (Probenbehälter, Kryosubstrate) bereitzustellen, mit denen die Nachteile der herkömmlichen Probenkammern überwunden werden und die sich insbesondere durch eine vereinfachte Herstellung und/oder eine verbesserte Handhabbarkeit bei der Probenbeschickung, beim Einfriervorgang und bei der Probenentnahme auszeichnen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, verbesserte Verfahren zur Herstellung und/oder zur Anwendung von Probenaufnahmeeinrichtungen bereitzustellen, mit denen die Nachteile bei der Herstellung oder Verwendung herkömmlicher Probenkammern überwunden werden und die insbe-

sondere eine kostengünstige, massenhafte Anwendung der Kryokonservierung ermöglichen.

5 Diese Aufgaben werden durch Probenaufnahmeeinrichtungen und Verfahren mit den Merkmalen der Patentansprüche 1 oder 18 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

10 Die Erfindung basiert vorrichtungsbezogen auf der allgemeinen technischen Lehre, eine Probenaufnahmeeinrichtung mit einem ein Bündel aus hohlleitungsähnlichen, insbesondere schlauch- oder rohrförmigen Probenkammern und einer Halteeinrichtung, mit der das Bündel der Probenkammern verbunden ist, dahingehend weiterzuentwickeln, dass die Halteeinrichtung durch einzelne, voneinander getrennte Halterahmen gebildet wird. Die erfindungsgemäße Bildung eines Verbundes aus Probenkammern und über deren Länge befestigte Halterahmen ermöglicht die Schaffung eines flexiblen und stabilen Gurtes oder Stranges, in dem die Probenkammern eine vorbestimmte Anordnung relativ 15 20 25 zueinander besitzen. Der Gurt bildet zunächst ein Endlosband, aus dem je nach den Anforderungen einer konkreten Anwendung eine Probenaufnahmeeinrichtung, insbesondere für die Kryokonservierung biologischer Materialien mit den gewünschten Maßen abgetrennt werden kann. Die Halterahmen erleichtern des Weiteren die Schaffung eines kompakten, geringvolumigen Aufbaus der Probenaufnahmeeinrichtung, ohne dass die Aufnahmekapazität der Probenkammern eingeschränkt wird.

30 Das Bündel der Probenkammern ist eine Schar gleichartiger oder verschiedener, lang gestreckter Hohlkammern aus einem über die Länge des Bündels biegsamen Material. Wenn die Probenkammern einzelne, unabhängige Schläuche umfassen, können sich Vorteile für die Herstellung der Probenaufnahmeeinrichtung ergeben. Alternativ können an den Enden des Büschels al-

le Probenkammern oder Gruppen von Probenkammern verbunden sein, wobei sich Vorteile für die Beschickung der Probenaufnahmeeinrichtung ergeben können.

5 Ein Halterahmen ist ein tragendes oder stützendes gerüstartiges Bauteil aus umlaufenden Rahmenteilen, das die Probenkammern trägt. Zwischen den Rahmenteilen (zum Beispiel Stäbe) eines Halterahmens sind die Probenkammern freitragend angeordnet.

10

Wenn gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung die Halterahmen ebene Träger bilden, an denen die Probenkammern nebeneinander angeordnet sind, können sich Vorteile für die Beobachtung der Probenkammern und den Zugriff auf die

15 Proben im gefrorenen Zustand ergeben. Die Halterahmen besitzen vorzugsweise eine rechteckige Form, in der die Probenkammern frei tragend und gerade verlaufend ausgerichtet sind.

20 Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung können die Halterahmen voneinander beabstandet mit dem Bündel der Probenkammern verbunden sein. Diese Variante kann Vorteile in Bezug auf die Abtrennung einzelner Halterahmen vom Strang besitzen. Die Abstände zwischen den zueinander weisenden Rahmenteilen der Halterahmen sind in Abhängigkeit von den konkreten Anforderungen gewählt. Sie sind vorzugsweise größer als die 1-fache Dicke der Halterahmen.

25 Gemäß einer abgewandelten Ausführungsform der Erfindung kann vorgesehen sein, dass die Halterahmen als getrennte Teile, jedoch ohne Abstände entlang der Länge des Bündels angeordnet sind. Die zueinander weisenden Rahmenteile berühren sich gegenseitig. Die Halterahmen sind bündig zueinander angeordnet. Diese Ausführungsform kann insbesondere bei der Verwendung von Probenkammern aus gummielastischen Materialien Vorteile

bei der Stapelbildung besitzen. Bei der Bildung eines Stapels durch gegenseitiges Umklappen von einzelnen Halterahmen kommt es zu einer Deformation und Abschnürung der Probenkammern zwischen den Halterahmen. Die Probenkammerabschnitte jeweils 5 in benachbarten Halterahmen werden dadurch mechanisch voneinander getrennt.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform der Erfindung kann vorgesehen sein, dass die Abstände der Halterahmen so gewählt 10 sind, dass ein Halterahmen durch Umschwenken oder Umklappen auf den benachbarten Halterahmen aufgelegt werden kann, ohne dass die Probenkammern zwischen den Halterrahmen beschädigt werden.

15 In einer besonders bevorzugten Realisierung der erfindungsge-mäßen Probenaufnahmeeinrichtung sind die Halterahmen überein-ander angeordnet, so dass sich vorteilhafterweise ein kompak-ter Aufbau bildet. Die Halterahmen bilden einen Stapel. Zur gegenseitigen Fixierung kann eine Klemmeinrichtung, zum Bei-20 spiel eine Klammer oder ein elastisches Band vorgesehen sein, mit denen die Halterahmen zusammengehalten werden.

Gemäß weiteren Varianten der Erfindung kann in wenigstens ei-25 nem oder allen der Halterahmen jeweils ein integrierter e-lektronischer oder optischer Datenspeicher vorgesehen sein, so dass sich vorteilhafterweise die Funktionalität der Pro-benaufnahmeeinrichtung erweitern lässt. Zusätzlich oder al-ternativ kann entlang der Längsrichtung des Bündels der Pro-30 benkammern zwischen wenigstens zwei Halterahmen oder am Ende des Bündels wenigstens eine Datenspeichereinrichtung vorgese-hen sein. Es können beispielsweise in jedem der o. g. Stapel mehrere Halterahmen und mindestens eine Datenspeichereinrich-tung enthalten sein.

Generell können erfindungsgemäß Probenkammern mit allen Formen verwendet werden, die für die konkrete Anwendung gewünscht sind. In vielen Fällen besitzen die Probenkammern entlang ihrer Länge eine homogene Form und insbesondere eine gleich bleibenden, zum Beispiel runde Querschnittsfläche. Besondere Vorteile des erfindungsgemäßen Verbundes aus mindestens zwei lang gestreckten Probenkammern mit einer Folge von Halterahmen können sich ergeben, wenn die Probenkammern eine in Bezug auf ihre Längsausdehnung nicht-rotationssymmetrische Querschnittsfläche und/oder eine entlang ihrer Längsausdehnung veränderliche Querschnittsfläche besitzen. In diesem Fall kann mit den Halterahmen eine vorgegebene relative Ausrichtung der Probenkammern innerhalb des Bündels und/oder über die gesamte Länge der Probenkammern erhalten werden.

15

Wenn die Probekammern gemäß einer ersten Variante einen rechteckigen Querschnitt aufweisen, werden im Wesentlichen ebene Seitenflächen der Probenkammern geschaffen, woraus sich Vorteile für die Beobachtung oder Messung an Proben ergeben können. Besonders vorteilhaft ist es, wenn alle Probekammern so an den Halterrahmen befestigt sind, dass jeweils eine ebene Seitenfläche der Probekammern parallel zur ebenen Ausdehnung der Halterrahmen ausgerichtet ist.

25

Wenn die Probekammern gemäß einer weiteren Variante einen Querschnitt aufweisen, der sich entlang der Länge der Probekammern verändert, können sich Kammerabschnitte mit einer größeren und einer kleineren Querschnittsfläche abwechseln, so dass vorteilhafterweise Kompartimente oder Teilkammern geschaffen werden. Die Kompartimente können die Probenentnahme insbesondere im gefrorenen Zustand erleichtern. Bevorzugt wird der Querschnitt der Probekammern periodisch verändert, so dass sich eine Vielzahl von Kompartimenten bilden.

Alternativ können Probenkammern vorgesehen sein, die durch mindestens eine Kammerwand in mindestens zwei langgestreckte, sich über die Bündellänge erstreckende Teilkammern unterteilt sind. Derartige Probenkammern sind beispielsweise Mehrfach-

5 Verbundschläuche. Die Unterteilung in Teilkammern kann für spezielle Speichertechniken vorteilhaft sein, um beispielsweise Proben und Referenzproben in einem festen Verbund einzufrieren. Wenn gemäß einer weiteren Modifizierung die Kammerwand teildurchlässig ist, kann ein Stoffaustausch zwischen den Teilkammern insbesondere vor dem Einfrieren oder nach dem Auftauen realisiert werden. Die Teildurchlässigkeit wird vorzugsweise durch die Verwendung einer Kammerwand mit Poren, wie z. B. in einem Filtermaterial oder einer Dialysemembran aufweist.

15

Die Erfindung basiert verfahrensbezogen auf der allgemeinen technischen Lehre, eine erfindungsgemäße Probenaufnahmeeinrichtung durch eine gleichzeitige Bereitstellung einer Vielzahl von Probenkammern, zum Beispiel durch Abziehen der Probenkammern von Vorratsrollen oder durch parallele Formung (Produktion z.B. mit mehreren Extrudern), Positionieren der Halterahmen und Aufwickeln des Verbundes aus Probenkammern und Halterahmen gelöst. Dieses Verfahren besitzt den Vorteil, dass hohlleitungsformige Probenkammern mit erheblichen Längen, z.B. von einigen Metern oder einigen 10 Metern, ohne die Gefahr einer unerwünschten Schleifenbildung oder Verwicklung zu kompakten Probenaufnahmeeinrichtungen verbunden werden können.

30 Wenn gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung die Halterahmen aus Kunststoff durch Spritzguss an den Probenkammern angebracht werden, kann die Produktion der erfindungsgemäßen Probenaufnahmeeinrichtung vorteilhafterweise weiter vereinfacht werden.

Vorteilhafte Ausführungsformen und Anwendungen der Erfindung werden im folgenden unter Bezug auf die beigefügten Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

5

Figur 1: eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Probenaufnahmeeinrichtung,

10

Figur 2: eine erfindungsgemäßen Probenaufnahmeeinrichtung mit einem Halterahmenstapel,

Figur 3: eine von der Probenaufnahmeeinrichtung abgetrennte Teilprobe,

15

Figur 4: verschiedene Formen von Probenkammern,

Figuren 5, 6: Illustrationen der Herstellung der erfindungsgemäßen Probenaufnahmeeinrichtung, und

20

Figur 7: eine herkömmlichen Probenaufnahme mit Schläuchen (Stand der Technik).

25

Die Erfindung wird im folgenden unter Beispielhaftem Bezug auf Probenaufnahmeeinrichtungen mit Schlauch-Probenkammern für die Kryokonservierung biologischer Materialien beschrieben. Einzelheiten der Kryokonservierung, insbesondere mit einer Proben- und Datenspeicherung sind an sich aus dem Stand der Technik bekannt. Diese Einzelheiten werden daher, soweit sie nicht für die Umsetzung der Erfindung von Bedeutung sind, hier nicht gesondert beschrieben.

30

Die erfindungsgemäße Probenaufnahmeeinrichtung 100 umfasst gemäß Figur 1 das Bündel 10 der Probenkammern 11, 12, ... und die Halteeinrichtung 20. Die Probenkammern 11, 12, ... sind

eine Vielzahl von hohlen Flüssigkeitsleitungen, die aus einem biegsamen, flexiblen Material bestehen. Die Flexibilität ist insbesondere bei Kunststoff, zum Beispiel HDPE oder PTFE gegeben, kann aber auch bei genügend geringen Wandstärken bei

5 Metallen, zum Beispiel Au, Stahl oder Halbleitermaterialien, zum Beispiel Si oder Verbundmaterialien ausreichen, um insbesondere die unten beschriebenen Rollen- oder Stapelanordnungen ohne eine Beschädigung der Probenkammern zu realisieren.

10 Die Innendurchmesser der Probenkammern können im Bereich von wenigen µm bis zum Beispiel 15 mm liegen. Die Wandstärke der Probenkammern kann ebenfalls in diesem Bereich variiert werden, wobei sie in der Regel so gering ausgelegt wird, dass die Probenkammern im gefrorenen (festen) Zustand zur Probenentnahme durchtrennt werden können. Die Zahl der Probenkammern ist vorzugsweise an die in der Biotechnologie gebräuchlichen Formate angepasst und liegt zum Beispiel im Bereich zwischen 96 und 256, kann aber auch darunter (wie dargestellt) oder darüber gewählt sein.

15

20 Die Halteeinrichtung 20 umfasst die Halterahmen 21, 22, ..., die entlang der Längsausdehnung des Bündels 10 mit vorbestimmten Rahmenabständen angeordnet sind. Die Halterahmen 21, 22, ... umfassen Rahmenteile mit zwei Längs-Rahmenteilen und zwei Quer-Rahmenteilen, die parallel und quer zur Längsrichtung des Bündels 10 ausgerichtet sind und ein Rechteck bilden. Die Halterahmen 21, 22, ... bestehen aus Kunststoff, zum Beispiel PE (insb. HDPE), PTFE, TPX. Die Probenkammern sind durch Spritzguss an die Halterahmen angeformt (siehe unten).

25

30 Die Größe der Halterahmen 21, 22, ... ist je nach der Anwendung und insbesondere der Zahl der Probenkammern gewählt. Die Länge der Längs-Rahmenteile kann beispielsweise im Bereich von 10 mm bis 20 cm gewählt sein, während die Länge der Quer-Rahmenteile für die Aufnahme von wenigstens zwei Probenkam-

mern ausgelegt und im Bereich von 5 mm bis 20 cm gewählt ist. Die Dicke der Halterahmen beträgt beispielsweise rund 0,5 bis 10 mm. Die Abstände benachbarter Halterahmen sind beispielsweise im Bereich von der mindestens 1-fachen Dicke der Halterahmen, insbesondere 10 mm bis 100 mm gewählt.

Zwischen zwei Halterahmen ist an der Probenaufnahmeeinrichtung 100 eine Datenspeichereinrichtung 50 gezeigt, der einen Datenspeicher in einer Kunststoffverkapselung mit einer Größe 10 zeigt, die an die Maße der Halterahmen angepasst ist. Die Gestaltung und Funktion der Datenspeichereinrichtung 50 ist an sich bereits bekannt, so dass hier keine weiteren Einzelheiten genannt sind.

15 Die Probenaufnahmeeinrichtung 100 kann zur Kryokonservierung in einem Behälter mit ausreichend geringer Temperatur (zum Beispiel Temperatur des flüssigen Stickstoffs oder seines Dampfes) frei hängend angeordnet sein. In diesem Fall kann an einem Ende des Bündels 10 ein Endstück 60 zur Aufhängung der 20 Probenaufnahmeeinrichtung 100 im Kryo-Behälter vorgesehen sein.

25 Abweichend von der illustrierten Ausführungsform der Erfindung können die Halterahmen mit verschiedenen Größen, anderen geometrischen Formen (zum Beispiel andere Vieleckformen oder runde Halterahmen) oder einer veränderten Ausrichtung relativ zur Bündellängsrichtung vorgesehen sein. Des Weiteren kann das Bündel 10 in Teilbündel jeweils mit kleineren Halterahmen unterteilt sein, die zum Teil mit gemeinsamen Halterahmen zu 30 einem Hauptbündel vereint sind. Des Weiteren können nicht-ebene Halterahmen vorgesehen sein.

Figur 2 zeigt die Probenaufnahmeeinrichtung 100 mit der Anordnung der Halterahmen 21, 22, ... als Stapel 30. Es werden

beispielsweise 2 bis 10 Halterahmen, ggf. mit mindestens einer Datenspeichereinrichtung zum Stapel 30 verbunden. Der Zusammenhalt im Stapel 30 wird erzielt, indem die Halterahmen durch ein mindestens ein elastisches Band 40 oder mindestens 5 eine Klammer (nicht dargestellt) zusammengehalten werden.

Die Probenkammern durchziehen den gesamten Stapel 30. Zur Probenbeschickung können die unteren Enden der Probenkammern mit Vorratsreservoirn zum Beispiel in einer Mikro- oder Na-10 notierplatte und die entgegen gesetzten Enden mit einer Saugeeinrichtung verbunden werden. Im gefrorenen Zustand kön-nen die zwischen den Halterrahmen gebildeten Schleifen der Probenkammern unterbrochen werden, wodurch ggf. die Proben-entnahme erleichtert werden kann.

15

Alternativ können Halterahmen mit aufgereihten Probenkammern, insbesondere im gefrorenen Zustand einzeln von der Probenauf-nahmeeinrichtung 100 abgetrennt werden. Beispielsweise zeigt Figur 3 einen einzelnen Halterrahmen 21 mit mehreren Proben-20 kammern 11, 12 Außerhalb des Halterrahmens ragen die Probenkammern 11, 12 ... mit verschiedenen Längen hervor, was Vorteile für die Probenentnahme oder Probenablage haben kann. Die Enden der abstehenden Probenkammern bilden eine bestimmte Kurvenform, deren Gestalt durch ein Schneidwerkzeug zur Ab-trennung des einzelnen Substrats gemäß Figur 3 von der Pro-25 benaufnahmeeinrichtung 100 bestimmt und in Abhängigkeit von den Anforderungen einer konkreten Kryokonservierungsaufgabe gewählt wird.

30 In Figur 4 sind erfindungsgemäß verwendete Probenkammern mit nicht-rotationssymmetrischen Querschnittsflächen oder in Längsrichtung gebildeten Kompartimenten beispielhaft illustriert. Die von der Zylinderform abweichende Ausführung der Proben-Hohlkammern kann für spezielle Messaufgaben oder eine

mikroskopische Beobachtung der Proben, insbesondere von Zellen im Inneren der Probenkammern von Bedeutung sein. Es können insbesondere Probenkammern mit einer rechteckigen Querschnittsfläche (Teilbild a) mit einer in Längsrichtung periodisch varierenden, runden (Teilbild b) oder nicht-runden (Teilbild c) Querschnittsfläche oder eine Verbundstruktur mit mehreren, in Längsrichtung verbundenen Teilkammern (Teilbilder d, e) vorgesehen sein. Die rechteckige Kammer von (a) erleichtert optische Beobachtungen an der Probe. Die Kompartimentierung (Schaffung von aufgereihten Teilkammern, die durch Einschnürungen voneinander getrennt sind) dient der selektiven Entnahme von Kammerteilen im gefrorenen Zustand.

Die Unterteilung z.B. der Probenkammer 11 (Teilbild d) in zwei Teilkammern 11a, 11b, die durch die Kammerwand 70 getrennt sind, liefert besondere Vorteile, wenn die Kammerwand 70 teildurchlässig ist, so dass ein Stoffaustausch zwischen beiden Teilkammern 11a, 11b realisiert werden kann. Beispielsweise werden in die Teilkammer 11a eine Zellsuspension und in die Teilkammer 11b eine Nährlösung mit einem Kryoprotektivum eingeführt. In Abhängigkeit von einer Zeitverzögerung zwischen der Beschickung der Teilkammern 11a, 11b bis zum Einfriervorgang kann eingestellt werden, wie viel Kryoprotektivum in die Zellsuspension diffundiert. Andererseits kann beim Auftauvorgang durch ein Durchströmen der zweiten Teilkammer 11b mit einer Waschlösung das Kryoprotektivum aus der Zellsuspension in der ersten Teilkammer 11a mittels Diffusion abgezogen werden. Vorteilhafterweise wird dabei die bisher übliche Zentrifugation von Zellen vermieden, die zu einer Schädigung an aufgetauten Zellen führen kann. Die bandartige Kombination von Probenkammern gemäß Teilbild e ermöglicht, dass in jeder Teilkammer bestimmte Zellen untergebracht werden, die erst nach dem Auftauen in Kontakt gebracht werden sollen (z.B. Stammzellen mit Ammenzellen etc.).

Die Wandkammer 70 kann sich längs durch die Probenkammer 11 erstrecken und dabei eine einfache Trennwand (Teilbilder f, g) oder ein komplexeres Gebilde (Teilbild a) formen. Die Kammerwand 70 kann mit Poren (Teilbild f) oder wie eine Dialysemembran (Teilbild g) für bestimmte Probenbestandteile durchlässig gestaltet sein. Die Poren oder Durchbrechungen können Durchmesser von einigen Mikrometern oder weniger aufweisen, so dass Zellen die Trennwand nicht passieren können. Wenn dieser Übergang gerade erwünscht ist, werden die Poren größer gewählt. Die Teilbilder f und g zeigen, dass bei der Probenbeschickung oder bei der Probenbehandlung nach dem Auftauen die Teilkammern durch die beteiligten Suspensionen und Lösungen gleich- oder gegensinnig durchströmt werden können. Erfindungsgemäß kann vorgesehen sein, dass die Probenkammern an sich aus Zellulosemembranen oder aus Dialysemembranen aufgebaut sind.

Die Figuren 5 und 6 zeigen das Prinzip einer Vorrichtung 200 zur Herstellung der erfindungsgemäßen Probenaufnahmeeinrichtung 100 als Endlos-Kryosubstrat. Die Vorrichtung 200 umfasst eine Baugruppe 210 zur Bereitstellung der Probenkammern, eine Fixiereinrichtung 220 zur Befestigung der Halterahmen und eine Sammeleinrichtung 230 zur Aufnahme der Probenaufnahmeeinrichtung 100. Die Baugruppe 210 umfasst beim dargestellten Ausführungsbeispiel Vorratsrollen 211, auf denen jeweils Probenkammern aufgewickelt sind. Die Zahl der Vorratsrollen 211 entspricht der Zahl der im Bündel 10 zu verbindenden Probenkammern. Alternativ kann eine Extruderanordnung vorgesehen sein, an der die Probenkammern nach an sich bekannten Techniken zur Schlauchproduktion hergestellt werden.

Die Fixiereinrichtung 220 umfasst eine erste und eine zweite Justiereinrichtung 221, 223 zur gegenseitigen Ausrichtung der

Probenkammern im Bündel 10 und eine schematisch gezeigte Fü-
geeinrichtung 222 zur Anbringung der Halterahmen 21, 22, ...

- . Die Justiereinrichtung 221, 223 umfasst beim dargestellten Ausführungsbeispiel zwei Walzen, die ggf. mit einer strukturierten Oberfläche ausgestattet sind und die Abstände der Probenkammern auf den Halterahmen vorgeben.

Von den Vorratsrollen 211 laufen Schläuche oder andere hohle Bandsysteme, die die Probenkammern bilden, über die ersten 10 Justiereinrichtung 221, von der die Schläuche parallel und frei aufgespannt durch die Fixiereinrichtung 220 bis zur zweiten Justiereinrichtung 221 laufen. Mit der Fügeeinrich-
tung 222 werden die Probenkammern mit einem an sich bekannten Spritzgussverfahren oder Kunststoff-Fügeverfahren in die Hal-
terahmen 21, 22 eingefügt oder die Halterahmen an die Proben-
kammern angeformt. Wenn die Halterahmen als Klemmrahmen aus 15 jeweils zwei Halbrahmen gebildet sind, zwischen denen die Probenkammern eingeklemmt werden, kann an der Fügeeinrichtung 222 ein mechanisches Zusammensetzen der Halbrahmen von beiden Seiten der aufgespannten Probenkammern her vorgesehen sein.

Die Halterahmen fixieren die Probenkammern in der fest aufge-
spannten, geraden Form. Die Fixierung ist bei der Kryokonser-
vierung zunächst unlösbar, kann aber beispielsweise zur Pro-
benentnahme mit speziell angepassten Werkzeugen aufgebrochen 25 werden. Über die zweite Justiereinrichtung 223 läuft der Ver-
bund aus Probenkammern und Halterahmen auf die Sammeleinrich-
tung 230, die beispielsweise eine Sammelrolle umfasst.

30 Die Sammeleinrichtung 230 mit der aufgewickelten Probenauf-
nahmeeinrichtung 100 stellt eine Ausführungsform der Erfin-
dung dar, die als fertiges Produkt an den Nutzer verschickt
werden kann. Je nach den konkreten Anforderungen kann dann
ein einzelner Halterahmen mit den aufgespannten Probenkammern

oder ein Strang mit mehreren Halterrahmen abgetrennt werden.
Die Probenbeschickung kann im aufgerollten oder abgetrennten Zustand der Probenaufnahmeeinrichtung erfolgen.

- 5 Die in der vorstehenden Beschreibung, den Ansprüchen und den Zeichnungen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in Kombination für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausgestaltungen von Bedeutung sein.

10

PATENTANSPRÜCHE

5 1. Probenaufnahmeeinrichtung (100), insbesondere zur Kryokonservierung mindestens einer Probe, umfassend:

- ein Bündel (10) aus einer Vielzahl von schlauchförmigen, flexiblen Probenkammern (11, 12, ...), und
- eine Halteeinrichtung (20), mit der das Bündel (10) der Probenkammern verbunden ist,
dadurch gekennzeichnet, dass
- die Halteeinrichtung (20) eine Vielzahl von Halterahmen (21, 22, ...) aufweist, die in einer Längsrichtung des Bündels (10) angeordnet sind.

15 2. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 1, bei der die Halterahmen (21, 22, ...) ebene Träger bilden, an denen die Probenkammern (11, 12, ...) nebeneinander angeordnet sind.

20 3. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 1 oder 2, bei der die Halterahmen (21, 22, ...) eine rechteckige Form bilden.

25 4. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der zwischen den Halterahmen (21, 22, ...) Abstände gebildet sind.

30 5. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 4, bei der die Abstände größer als die 1-fache Dicke der Halterahmen ist.

 6. Probenaufnahmeeinrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der die Halterahmen (21, 22, ...) bündig aneinander grenzend in der Längsrichtung des Bündels (10) angeordnet sind.

7. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 4 bis 6, bei der die Halterahmen (21, 22, ...) einen Stapel (30) bilden.

5

8. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 7, bei der die Halterahmen (21, 22, ...) im Stapel (30) durch eine Klemmeinrichtung zusammengehalten werden.

10 9. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der wenigstens einer der Halterahmen (21, 22, ...) einen integrierten Datenspeicher enthält.

15 10. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 9, bei der alle Halterahmen (21, 22, ...) jeweils einen integrierten Datenspeicher enthalten.

20 11. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der entlang der Längsrichtung des Bündels (10) der Probekammern (11, 12, ...) zwischen wenigstens zwei Halterrahmen wenigstens eine Datenspeichereinrichtung (50) vorgesehen ist.

25 12. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Probekammern (11, 12, ...) einen rechteckigen Querschnitt aufweisen.

30 13. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 12, bei der alle Probekammern so an den Halterrahmen (21, 22, ...) befestigt sind, dass jeweils eine ebene Seitenfläche der Probekammern parallel zur ebenen Ausdehnung der Halterrahmen ausgerichtet ist.

14. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 11, bei der die Probekammern einen Querschnitt aufweisen, der sich entlang der Länge der Probekammern verändert.

5

15. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 14, bei der sich der Querschnitt der Probekammern periodisch verändert.

10 16. Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, bei der die Probekammern (11, 12, ...) entlang ihrer Länge durch mindestens eine Kammerwand (70) in mindestens zwei Teilkammern (11a, 11b, 12a, 12b,...) unterteilt sind.

15 17. Probenaufnahmeeinrichtung nach Anspruch 16, bei der die Kammerwand (70) Poren aufweist oder eine Dialysémembran ist.

20 18. Verfahren zur Herstellung einer Probenaufnahmeeinrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, mit den Schritten:

- Bereitstellung oder Formung der Probekammern (11, 12,...),
- Formung des Bündels (10) der Probekammern (11, 12, ...), und
- Anbringung der Halterahmen (21, 22, ...) in der Längsrichtung des Bündels (10).

25

19. Verfahren nach Anspruch 18, bei dem die Bereitstellung der Probekammern (11, 12 ...) ein Abwickeln von Vorratsrollen (211) umfasst.

30

20. Verfahren nach Anspruch 19, bei dem die Formung des Bündels (10) der Probekammern (11, 12 ...) ein gleichzeitiges Ziehen der Probekammern (11, 12 ...) von den Vorratsrollen (211) umfasst.

21. Verfahren nach Anspruch 18, bei dem die Formung der Probenkammern (11, 12 ...) eine parallele Extrusion von Schläuchen umfasst.

5

22. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 18 bis 21, bei dem die Halterahmen mit einem Spritzgussverfahren oder einem Klemmverfahren an den Probenkammern (11, 12, ...) angebracht werden.

10

23. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 18 bis 22, mit dem weiteren Schritt Aufwickeln des Verbundes aus Probenkammern und Halterahmen.

Probenaufnahmeeinrichtung und Verfahren zu deren Herstellung

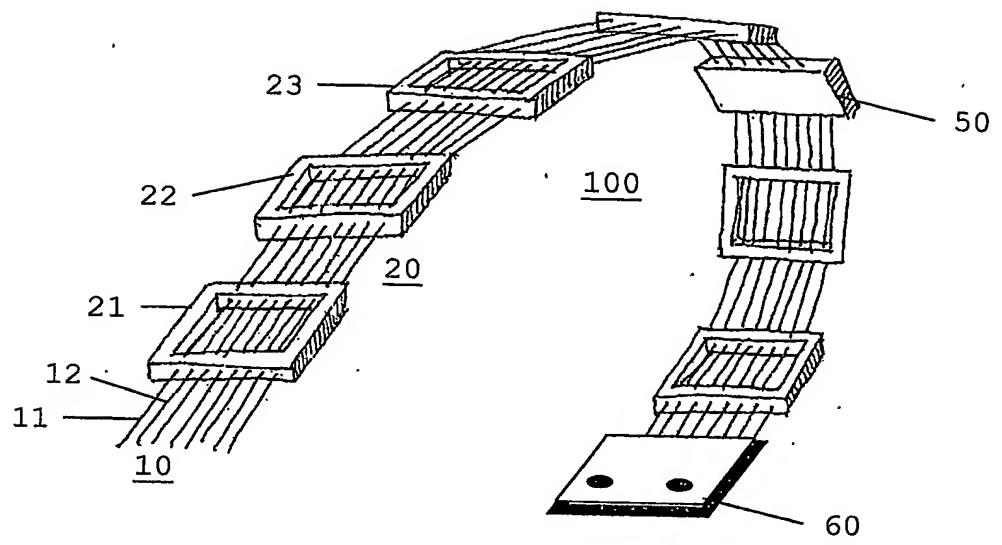
5

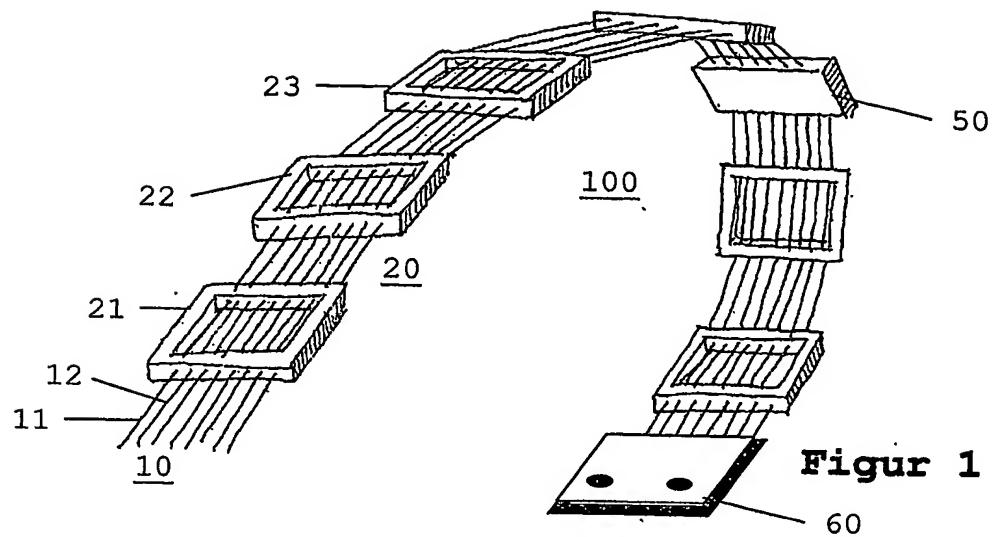
Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Probenaufnahmeeinrichtung (100), insbesondere zur Kryokonservierung mindestens einer Probe, die ein Bündel (10) aus einer Vielzahl von schlauchförmigen, 10 flexiblen Probenkammern (11, 12, ...) und eine Halteeinrichtung (20), mit der das Bündel (10) der Probenkammern verbunden ist, umfasst. Die Halteeinrichtung (20) weist eine Vielzahl von Halterahmen (21, 22, ...) auf, die in einer Längsrichtung des Bündels (10) angeordnet sind.

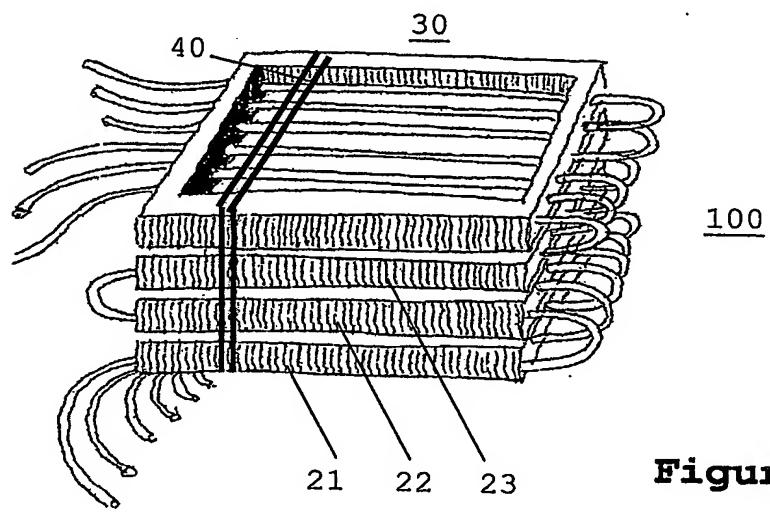
15

(Figur 1)

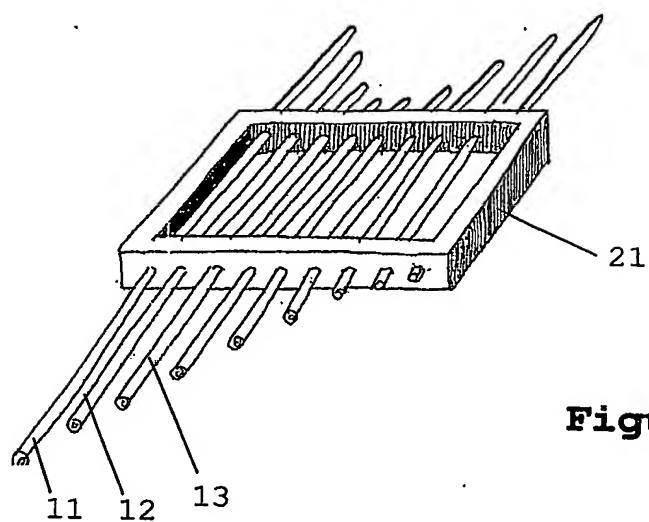




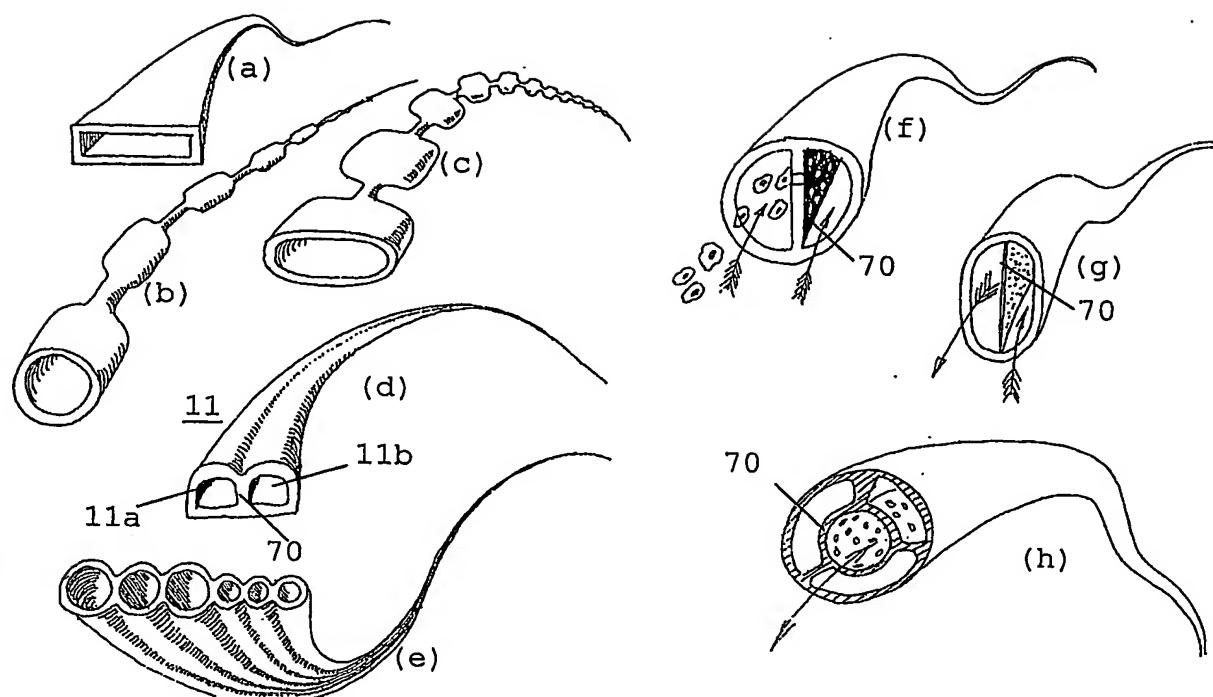
Figur 1



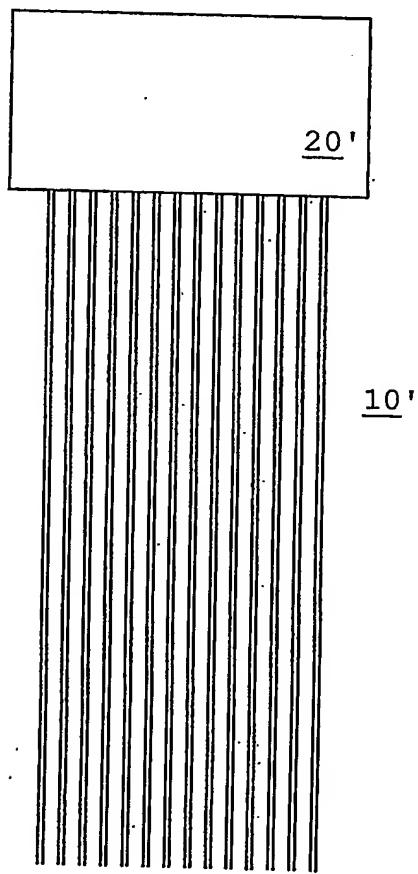
Figur 2



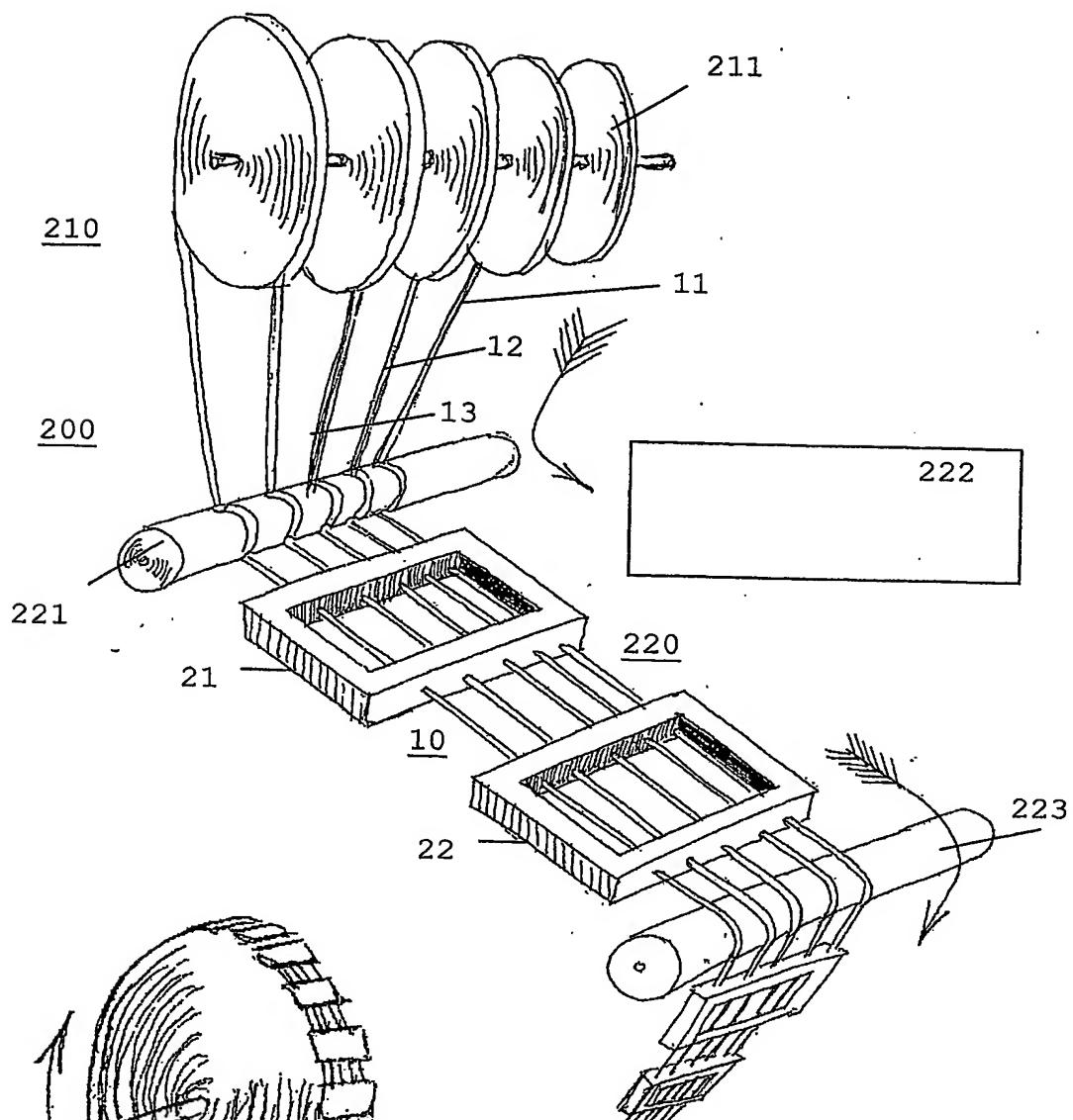
Figur 3



Figur 4



**Figur 7
(Stand der Technik)**



Figur 5



Figur 6